



Kualitas Semen Beku Sapi Limousin setelah *Thawing* Menggunakan Air Dingin dengan Lama Waktu yang Berbeda

(Quality of Post Thawing Frozen Semen on Limousin Bull Using Cold Water with Different Durations)

Aulia Puspita Anugra Yekti^{1*}, Rheta Eva Ramadhani Setiawan¹, Achadiyah Rachmawati¹, dan Trinil Susilawati¹

¹Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, Indonesia

ABSTRAK. Keberhasilan inseminasi buatan dipengaruhi oleh kualitas semen atau motilitas spermatozoa *post thawing*. Inseminator menggunakan air dingin (28°C) untuk *thawing* semen beku sedangkan SNI menyarankan *thawing* semen beku dengan air hangat (37°C) selama 30 detik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama dan suhu *thawing* pada semen beku sapi Limousin terhadap kualitas semen serta mengetahui perlakuan terbaik dari penelitian ini. Materi yang digunakan adalah 50 *straw* semen beku sapi Limousin yang diproduksi oleh BBIB Singosari. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan 5 perlakuan dan 10 ulangan. Variabel yang diamati adalah Motilitas Individu spermatozoa, Viabilitas spermatozoa, Abnormalitas spermatozoa, Konsentrasi dan Total Motilitas Spermatozoa. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) kemudian diuji dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) jika terdapat perbedaan nyata. Selanjutnya diuji *Chi square* untuk variabel motilitas individu, konsentrasi dan total spermatozoa dan dibandingkan dengan SNI untuk semen beku. Dari hasil penelitian, didapatkan bahwa *thawing* pada suhu 28°C dengan lama waktu 60 detik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap viabilitas dan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) pada motilitas individu dan total spermatozoa motil. Sedangkan, konsentrasi dan abnormalitas spermatozoa memberikan hasil tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah *thawing* dengan air dingin (suhu 28°C) selama 60 detik memberikan kualitas semen terbaik setelah *thawing*.

Kata kunci: abnormalitas, konsentrasi, motilitas individu, total spermatozoa motil, viabilitas

ABSTRACT. The quality of post-thawing semen influences the success factor of artificial insemination (AI). Inseminators usually used tap water (28°C) to thaw the frozen semen, while Indonesian National Standard used warm water (37°C) for 30 seconds. This study aims to determine the effect of thawing duration on the frozen semen quality of Limousin Bull and also to know the best treatment between the five treatments of this experiment. The material used in this study was 50 straws of frozen semen produced by Artificial Insemination Center Singosari. The method was an experiment method with five treatments and ten replications. The variables observed were individual motility, sperm viability, sperm abnormality, concentration, and total motile of sperm. The data obtained were analyzed statistically using Analysis of Variance (ANOVA) of Randomized Block Design (RBD) and then using Duncan Multiple Range Test if there is a difference. Then using Chi-Square Test for individual motility, concentration, and total motile of sperm and compared with the Indonesian National Standard of frozen semen. The results show that a temperature of 28°C with a duration of 60 seconds is highly significant ($P < 0,01$) to viability and significant ($P < 0,05$) to individual motility and total motile of sperm. While, the concentration and abnormality of sperm give no significant effect ($P > 0,05$). In conclusion, the temperature and duration of thawing at 28°C for 60 seconds show the best quality of post-thawing semen.

Keywords: abnormality, concentration, individual motility, total motile of sperm, viability

PENDAHULUAN

Salah satu jenis sapi potong yang dikembangkan di Indonesia untuk produksi daging adalah sapi Limousin karena pertumbuhannya yang cepat. Semen sapi Limousin dimanfaatkan untuk inseminasi buatan pada ternak-ternak sapi lokal agar menghasilkan anakan dengan bobot badan yang tinggi. Inseminasi Buatan (IB) adalah proses memasukkan semen ke dalam alat kelamin hewan betina dengan menggunakan *insemination*

gun dengan tujuan agar hewan tersebut bunting (Susilawati, 2013). Menurut Purnomo *et al.* (2019) semen yang dibekukan memiliki keuntungan yaitu spermatozoa dapat bertahan lebih lama dibandingkan semen cair dan dapat diinseminasikan kapan saja jika dibutuhkan. Sebelum diinseminasikan ke ternak betina, semen beku harus dicairkan (*thawing*) terlebih dahulu (Wulandari dan Prihatno, 2014). Pelaksanaan dan prosedur inseminasi buatan mulai dari pengamatan birahi, *handling* semen beku, *thawing* semen beku hingga sampai pelaksanaan inseminasi buatan sangatlah memengaruhi keberhasilan perkawinan (Hamangkutama *et al.*, 2015).

*Email Korespondensi: auliapay@ub.ac.id

Diterima: 8 November 2021

Direvisi: 14 Juli 2022

Disetujui: 12 Januari 2023

DOI: <https://doi.org/10.17969/agripet.v23i1.23331>

Semen beku harus segera digunakan setelah dicairkan karena daya tahan hidup semen beku yang dicairkan tidak seperti semen cair segar. Teknik *thawing* yang kurang tepat menyebabkan banyak spermatozoa yang mengalami penurunan kemampuan pembuahan (Utomo dan Boquifai, 2010). Perlakuan suhu dan lama *thawing* yang tepat pada semen beku akan mencegah spermatozoa dari kerusakan. Setelah dilakukan *thawing* pada semen beku, semen harus diuji kualitasnya meliputi uji motilitas, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi dan total spermatozoa motil (Susilawati, 2013).

Menurut SNI 4869-1:2021, semen beku sapi dicairkan kembali pada suhu 37-38°C selama 30 detik. Air yang digunakan untuk *thawing* dengan suhu 37°C, 35°C dan 28-30°C tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap keberhasilan IB (Wulandari dan Prihatno, 2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh Aprilina *et al.* (2014) semen beku yang di *thawing* pada suhu 37°C selama 20 detik menghasilkan persentase motilitas sebesar 36,67% dan persentase viabilitas sebesar 40,54%. Menurut Hoesni (2013) semen beku yang dicairkan pada suhu 25°C dengan lama waktu 60 detik memiliki persentase motilitas spermatozoa sebesar 55,63%. Andrefani *et al.* (2019) menyatakan bahwa semen beku yang di *thawing* pada suhu 29°C dengan waktu 15 detik memiliki persentase motilitas sebesar 86,25% sedangkan jika *thawing* dengan suhu yang sama dengan lama waktu 30 detik, persentase motilitas hanya sebesar 78,75% dan jika lama waktu *thawing* 45 detik, persentase motilitas spermatozoa hanya mencapai 65%. *Thawing* di lapang biasanya menggunakan air dingin karena lebih mudah dan praktis namun motilitas semen setelah di *thawing* memiliki kualitas yang bervariasi.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh lama dan suhu *thawing* pada semen beku sapi Limousin dengan penggunaan air hangat dan air dingin dengan lama waktu yang telah ditentukan sehingga hasil penelitian ini dapat digunakan oleh inseminator sebagai acuan untuk *thawing* semen beku di lapang.

MATERI DAN METODE

Materi dan Metode

Sampel semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50 straw semen beku sapi Limousin yang diproduksi oleh BBIB Singosari Malang yang dibagi kedalam 5 perlakuan antara

lain: P0. *Thawing* pada air bersuhu 37°C selama 30 detik ; P1. *Thawing* pada air bersuhu 28°C selama 15 detik ; P2. *Thawing* pada air bersuhu 28°C selama 30 detik ; P3. *Thawing* pada air bersuhu 28°C selama 45 detik dan P4. *Thawing* pada air bersuhu 28°C selama 60 detik. Variabel yang diamati meliputi: motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi dan total spermatozoa motil.

Pengamatan Motilitas Individu

Menurut Fitrik dan Supartini (2012) Pengamatan motilitas individu dilakukan dengan meletakkan satu tetes semen yang telah di *thawing* di atas *object glass* yang kemudian ditutup dengan *cover glass*. Dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali dengan melihat lima lapang pandang. Spermatozoa yang masih baik kualitasnya akan bergerak progresif atau maju ke depan. Selanjutnya dihitung jumlah spermatozoa yang bergerak progresif dibagi jumlah spermatozoa yang diamati dan dinyatakan dalam persentase.

Pengamatan Viabilitas

Viabilitas merupakan persentase spermatozoa yang hidup dan mati yang dapat dibedakan menggunakan reaksi dari pemberian pewarna. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna, sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna. Menurut Susilawati (2011) pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan satu tetes semen di atas *object glass* dan ditambahkan satu tetes pewarna eosin-negrosin dan kemudian dibuat ulasan. Spermatozoa yang dihitung minimal 200 ekor. Preparat ulas diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Dihitung jumlah spermatozoa yang hidup dan dibagi dengan jumlah spermatozoa yang diamati dalam lapang pandang dan dinyatakan dalam persentase.

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\sum \text{spermatozoa hidup}}{\sum \text{spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Pengamatan Abnormalitas

Pengamatan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan satu tetes semen di atas *object glass* dan ditambahkan satu tetes pewarna eosin-negrosin dan kemudian dibuat ulasan. Preparat ulas diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x (Susilawati, 2013). Dihitung jumlah spermatozoa yang abnormal dan dibagi dengan jumlah spermatozoa yang diamati dalam lapang pandang dan dinyatakan dalam persentase.

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{\sum \text{spermatozoa abnormal}}{\sum \text{spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Pengamatan Konsentrasi

Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan *Neubauer chamber*. Menurut Mahendra, Samsudewa dan Ondho (2018) pengamatan konsentrasi dilakukan dengan mengambil 10 µl semen menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* yang berisi 990 µl NaCl 3% (perbandingan 1:100) dan dihomogenkan selama 2-3 menit lalu dimasukkan ke dalam *Neubauer chamber*. Diamati 5 kotak hitung besar bagian atas dan 5 kotak hitung bagian bawah menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x. Konsentrasi spermatozoa per *straw* dihitung dengan mengalikan jumlah rata-rata spermatozoa dalam *chamber* dengan faktor koreksi dan faktor pengencer.

Jumlah Spermatozoa (juta/ml) = $N \times 5 \times FP \times 10.000$

Keterangan:

N = jumlah rerata spermatozoa dalam *chamber*

5 = faktor koreksi karena hanya menghitung 5 kotak dari 25 kotak

FP = faktor pengencer (1:100)

10.000 = kedalaman *neubauer chamber* sebesar 0,0001 ml/*Neubauer chamber* (faktor koreksi)

Total spermatozoa motil (juta/ml) = SM x KS

Keterangan:

SM = Spermatozoa motil (%)

KS = Konsentrasi spermatozoa (juta/ml)

Total Spermatozoa Motil

Total spermatozoa motil merupakan hasil kali dari konsentrasi spermatozoa dengan motilitas spermatozoa (Muhammad *et al.*, 2016).

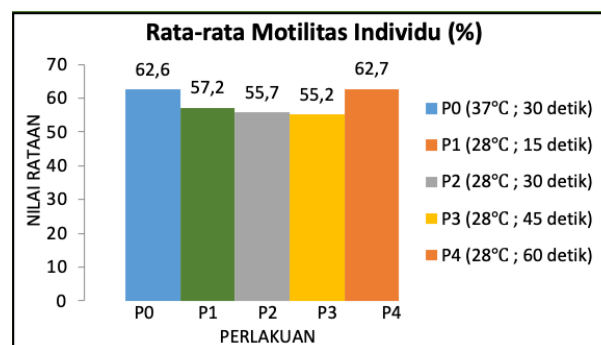
Analisa Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan diolah secara statistik menggunakan analisis ragam *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) kemudian diuji dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) jika terdapat perbedaan nyata. Selanjutnya diuji *Chi Square* pada variabel motilitas individu, konsentrasi dan total spermatozoa motil dengan menggunakan SNI sebagai pembanding.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Individu

Motilitas individu spermatozoa merupakan salah satu faktor untuk menentukan kualitas semen *post thawing* dengan cara melihat spermatozoa yang bergerak maju atau spermatozoa yang progresif. Spermatozoa yang masih baik kualitasnya akan bergerak progresif, sedangkan spermatozoa yang terkena *cold shock* akan bergerak memutar, bergerak mundur dan bergerak di tempat dan spermatozoa yang mati tidak bergerak (Susilawati, 2013).



Gambar 1. Grafik motilitas individu semen sapi Limousin

Gerakan maju spermatozoa sangat dibutuhkan saat berada di dalam saluran reproduksi ternak betina agar ovum dapat dibuahi oleh spermatozoa sehingga dapat terjadi kebuntingan. Grafik rata-rata motilitas individu *post thawing* semen beku sapi Limousin tertera pada Gambar 1.

Hasil analisis ragam menunjukkan suhu dan lama *thawing* memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap motilitas semen beku pada sapi

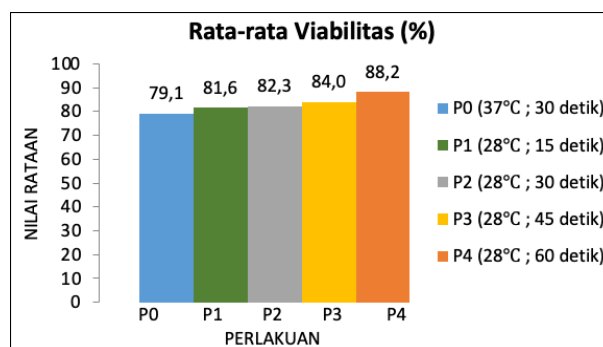
Limousin. Hasil uji DMRT pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa P4 memberikan pengaruh nyata pada persentase motilitas individu *post thawing* semen beku sapi Limousin. Namun, pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan dengan P0. Perlakuan pada P4 (suhu 28°C, lama waktu 60 detik) memiliki rata-rata persentase motilitas individu tertinggi dengan nilai 62,7%. Hal ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Pawshe *et al.* (2017) bahwa *thawing* semen beku dengan suhu 28° C selama 60

detik dan suhu 37° C selama 60 detik menghasilkan persentase motilitas individu sebesar 61,7±2,6%. Penelitian yang dilakukan oleh Kusumawati *et al.* (2019), *thawing* dengan suhu 25°C dan lama waktu 30 detik menghasilkan persentase motilitas sebesar 40,8%. Chaudhary *et al.* (2021) melaporkan bahwa *thawing* dengan suhu 30° C dan durasi 60 detik memberikan persentase motilitas sebesar 40,59%. Kondisi ini disebabkan karena pada P4 merupakan durasi yang ideal untuk melakukan *thawing*. Pada P1, P2 dan P3 terlihat persentase motilitas yang rendah. Ini menunjukkan bila lama waktu *thawing* semakin sebentar maka terjadi penurunan angka motilitas individu. Kristal-kristal es yang belum mencair dengan sempurna akan menghambat pergerakan spermatozoa secara progresif (Lestari *et al.*, 2014). *Thawing* menggunakan air bersuhu tinggi akan menyebabkan rusaknya membran plasma pada spermatozoa. Membran plasma sangat penting bagi kelangsungan hidup spermatozoa. Membran pada bagian kepala spermatozoa berfungsi untuk penetrasi zona pelusida pada saat fertilisasi, sedangkan membran pada bagian ekor digunakan untuk mendapatkan energi yang akan digunakan untuk pergerakan spermatozoa (Rodiah *et al.*, 2015). Menurut Pratama *et al.* (2018) *thawing* dengan suhu air

yang terlalu rendah atau terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya tekanan osmotik pada spermatozoa, sehingga konfigurasi lipid protein membran spermatozoa menjadi tidak seimbang. Hal inilah yang menyebabkan kondisi fisiologis spermatozoa tidak sesuai dan motilitasnya menjadi rendah. Dan dari hasil uji secara *chi square* menunjukkan bahwa perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4 memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P<0,01$) terhadap motilitas individu semen beku sapi Limousin. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa motilitas semen dari semua perlakuan memenuhi standar SNI yaitu minimal 40%.

Viabilitas

Uji viabilitas dilakukan dengan menggunakan eosin-negrosin sebagai pewarna sel spermatozoa. Pewarna sel yang paling baik digunakan adalah eosin-negrosin, dengan alasan yaitu sel spermatozoa yang hidup dan mati akan terlihat bedanya dengan jelas (Susilawati, 2011). Spermatozoa yang mati ditandai dengan terserapnya pewarna eosin-negrosin yaitu merah, sedangkan spermatozoa yang hidup ditandai dengan tidak terserapnya pewarna eosin-negrosin. Grafik rata-rata viabilitas *post thawing* semen beku sapi Limousin tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik viabilitas semen sapi Limousin

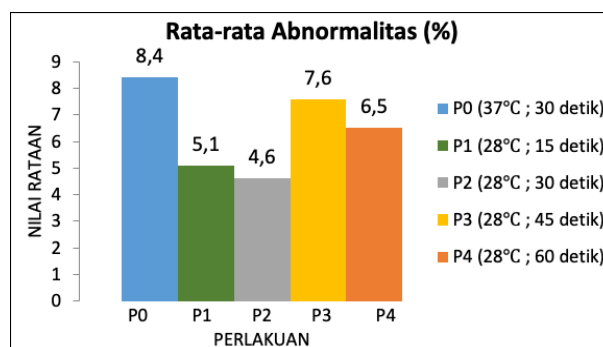
Hasil analisis ragam menunjukkan suhu dan lama *thawing* memberikan pengaruh sangat nyata ($p<0,01$) terhadap viabilitas semen beku pada sapi Limousin. Setelah dihitung dengan uji DMRT pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa P4 memberikan pengaruh nyata pada persentase viabilitas *post thawing* semen beku sapi Limousin. Namun, pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan dengan P3. Kondisi ini disebabkan karena terjadinya tekanan osmotik yang lebih besar pada membran spermatozoa akibat suhu dari P0 lebih tinggi dibandingkan dengan suhu P1, P2, P3 dan P4. Selain itu, rendahnya angka persentase viabilitas pada P0, P1, P2 dan P3 diduga akibat

belum semua semen beku mencair akibat waktu *thawing* yang terlalu singkat. Kusumawati *et al.* (2019) melaporkan bahwa *thawing* dengan suhu 25° C selama 7 detik, 15 detik dan 30 detik masing-masing menghasilkan persentase viabilitas 67,45%, 70,16% dan 82,39%. Pawshe *et al.* (2017) juga melaporkan bahwa semen beku yang di *thawing* dengan suhu 28° C selama 60 detik menghasilkan nilai viabilitas sebesar 77,3±2,2%. Jika belum terjadi tekanan osmotik ekstrim pada membran spermatozoa, maka permeabilitas membran utuh dan tidak terganggu. Hal ini menjamin keseimbangan homeostatis dan fluiditas membran sel karena pertukaran senyawa-senyawa

berlangsung secara normal (Salim *et al.*, 2012). Fluktuasi suhu meskipun kecil dapat merusak spermatozoa yang sangat rentan terhadap perubahan suhu yang ekstrim. Selain faktor suhu dan durasi *thawing*, banyaknya spermatozoa yang mati dimungkinkan karena kesalahan saat pembuatan preparat ulas. Saat pembuatan preparat ulas, spermatozoa dapat tertekan sangat keras. Sehingga, membran spermatozoa yang berfungsi melindungi masuknya zat warna ke dalam sel spermatozoa akan rusak. Oleh karena itu, sel spermatozoa yang mati akan menyerap warna, sedangkan sel spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna (Irvanto *et al.*, 2018). Hasil pengamatan dari ke lima perlakuan menunjukkan persentase viabilitas di atas 75%. Menurut Ghopa *et al.* (2019) persentase viabilitas semen beku minimal 60% sampai 75%, jika kurang dari itu maka semen tidak layak diinseminasikan ke ternak.

Abnormalitas

Abnormalitas merupakan spermatozoa yang memiliki bentuk tidak normal. Abnormalitas pada spermatozoa dapat disebabkan oleh dua faktor yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Abnormalitas spermatozoa dapat dibedakan menjadi dua yaitu abnormalitas primer (yang berhubungan dengan kepala dan akrosom) dan abnormalitas sekunder (yang terjadi akibat adanya *sitoplasmic droplet* pada *mid piece* pada ekor) (Susilawati, 2013). Abnormalitas menjadi salah satu indikator penting untuk menentukan kualitas spermatozoa. Hal ini dikarenakan sel yang abnormal akan menyebabkan gangguan saat fertilisasi, sehingga angka implantasi dan kebuntingan pada ternak akan rendah (Alfiati *et al.*, 2015). Grafik rata-rata abnormalitas *post thawing* semen beku sapi Limousin tertera pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik abnormalitas semen sapi Limousin

Hasil analisis ragam menunjukkan suhu dan lama *thawing* tidak memberikan pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas semen beku pada sapi Limousin. Hasil pengamatan menunjukkan angka abnormalitas spermatozoa semen beku dari ke lima perlakuan kurang dari 20%. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) Semen Beku Nasional (2005) dan Wahyutea *et al.* (2015) semen beku dengan abnormalitas di bawah 20% masih layak digunakan untuk inseminasi buatan. Abnormalitas pada semen sapi dibagi menjadi dua yaitu primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi pada hal yang berhubungan dengan kepala dan ekor seperti kepala terlalu kecil, kepala terlalu besar, kepala berganda, kepala lebar, memanjang dan ekor berganda. Abnormalitas sekunder disebabkan karena adanya kesalahan *handling* pada semen (Susilawati, 2013). Abnormalitas spermatozoa dapat terjadi karena proses pengenceran, pendinginan (*cooling*) dan pembekuan (*freezing*). Selain itu, pembuatan preparat ulas juga dapat meningkatkan angka

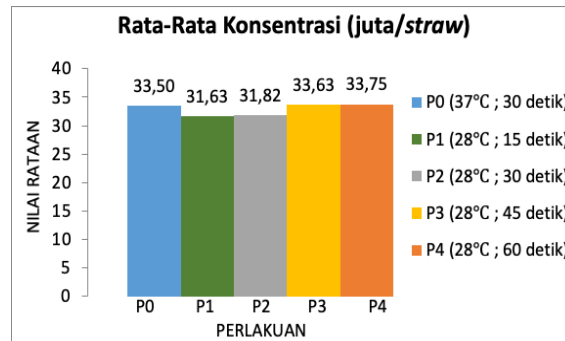
persentase abnormalitas spermatozoa. Jenis abnormalitas yang banyak ditemukan adalah abnormalitas sekunder dengan kasus kepala dan ekor terputus yang kemungkinan disebabkan karena pembuatan preparat ulas. Kasus-kasus abnormalitas lain tidak ditemukan. Hal itu menunjukkan bahwa suhu dan lama *thawing* tidak berpengaruh pada abnormalitas spermatozoa dari semen beku sapi Limousin.

Konsentrasi

Konsentrasi spermatozoa merupakan banyaknya spermatozoa yang dihasilkan oleh *tubuli seminiferi* (Fazrien *et al.*, 2020). Teknik perhitungan konsentrasi dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Prosedur uji konsentrasi dimulai dengan mengambil semen yang kemudian dicampur dengan NaCl 3% dan kemudian dihomogenkan sebelum diteteskan ke *haemocytometer*. Dalam bidang reproduksi, NaCl berfungsi sebagai penghenti gerakan spermatozoa saat akan dihitung konsentrasi menggunakan

neubauer. Spermatozoa berhenti bergerak karena tidak ada pasokan energi dari organel mitokondria (Soi, 2016). Grafik rata-rata konsentrasi *post*

thawing pada semen beku sapi Limousin dapat dilihat pada Gambar 4.



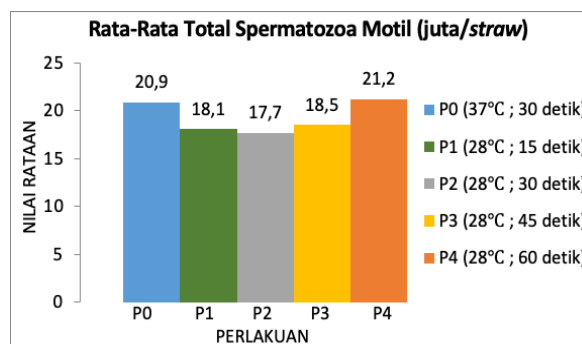
Gambar 4. Grafik konsentrasi semen sapi Limousin

Hasil analisis ragam menunjukkan suhu dan lama *thawing* tidak memberikan pengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap konsentrasi semen beku pada sapi Limousin. Hal ini menandakan suhu dan durasi *thawing* tidak memengaruhi nilai konsentrasi dari semen beku. Menurut SNI 4869-1:2021 standar konsentrasi semen beku adalah minimum 25 juta per *straw*. Dari hasil uji *chi square* yang dapat dilihat pada lampiran 6. menunjukkan bahwa perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4 memberikan pengaruh nyata ($P<0,05$) dimana nilai dari kelima perlakuan adalah di atas rata-rata standar SNI untuk konsentrasi yaitu 25 juta/*straw*, sehingga *straw* semen beku dari BBIB Singosari layak digunakan untuk IB. Angka konsentrasi di atas standar SNI (dalam hal ini dari kelima perlakuan >30 juta/*straw*) dapat disebabkan karena volume semen cair yang akan diproses untuk pembuatan semen beku nilainya tinggi. Volume semen berbanding lurus dengan jumlah spermatozoa (Nyuwita *et al.*, 2015). Meskipun hanya satu spermatozoa yang akan membuahi ovum, namun jumlah konsentrasi spermatozoa harus sesuai standar dari SNI. Nilai konsentrasi

spermatozoa yang di bawah standar akan menurunkan kuantitas dari spermatozoa yang bergerak menuju ovum saat akan dilakukan IB. Menurunnya kuantitas spermatozoa akan mengurangi kualitas dari semen beku yang akan digunakan untuk IB. Jika kualitas semen beku menurun, maka akan dapat menyebabkan rendahnya keberhasilan IB atau rendahnya peluang ternak betina untuk bunting karena kualitas dari semen beku merupakan salah satu faktor paling penting dalam keberhasilan inseminasi buatan.

Total Spermatozoa Motil

Total spermatozoa motil merupakan hasil kali dari konsentrasi spermatozoa dengan motilitas spermatozoa dalam semen cair. Total spermatozoa motil digunakan untuk mengetahui apakah semen yang akan digunakan untuk inseminasi buatan sudah memenuhi syarat atau tidak. Total spermatozoa motil menurut syarat SNI adalah 10 juta/*straw* atau 40 juta/ml. Grafik rata-rata total spermatozoa motil *post thawing* semen beku sapi Limousin tertera pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik total spermatozoa motil semen sapi Limousin

Hasil analisis ragam menunjukkan suhu dan lama *thawing* memberikan pengaruh nyata

($p<0,05$) terhadap total spermatozoa motil semen beku pada sapi Limousin. Setelah dihitung dengan

uji DMRT pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa P4 memberikan pengaruh nyata pada nilai total spermatozoa motil semen beku sapi Limousin. Namun, pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan dengan P0. Nilai total spermatozoa motil dipengaruhi oleh persentase motilitas individu spermatozoa dan nilai konsentrasi dari masing-masing perlakuan. Semua perlakuan (P0, P1, P2, P3 dan P4) memiliki nilai total motilitas spermatozoa yang lebih tinggi dari standar yang diharapkan yaitu 10 juta/*straw* atau 40 juta/ml. Menurut Muhammad *et al.* (2016). Nilai minimal untuk total spermatozoa motil adalah 40 juta/ml. Hal ini didasarkan pada standar SNI 4869-1:2021 bahwa konsentrasi semen beku adalah 25 juta/*straw* atau 100 juta/ml dengan motilitas individu sebesar 40%. Apabila total spermatozoa motil sudah diketahui, maka dapat diketahui pula apakah semen cair tersebut memenuhi syarat untuk diinseminasikan ke ternak (Muhammad *et al.*, 2018). Semakin tinggi persentase motilitas spermatozoa dan nilai konsentrasi spermatozoa, maka nilai total spermatozoa motil juga akan tinggi. Heriyanta *et al.* (2013) menyatakan bahwa jumlah spermatozoa dan motilitas individu sangat memengaruhi total spermatozoa motil. Banyaknya spermatozoa yang motil menandakan bahwa akan banyak spermatozoa yang bergerak ke saluran reproduksi ternak betina, sehingga peluang ternak betina untuk bunting sangat tinggi. Dari hasil uji *chi square* menunjukkan bahwa perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4 memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) dimana nilai dari kelima perlakuan adalah di atas rata-rata standar SNI untuk total spermatozoa motil yaitu 10 juta/*straw*.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah *thawing* dengan air dingin (suhu 28°C) selama 60 detik pada semen beku sapi Limousin menghasilkan kualitas semen terbaik berdasarkan nilai motilitas individu, viabilitas dan total spermatozoa motil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada LPPM Universitas Brawijaya melalui Hibah Peneliti Pemula (HPP) tahun 2021 dengan nomor kontrak 536.116.1/UN10.C10/PN/2021 yang telah mendanai penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrefani, F., Putranti, O., D., Hoda, A., 2019. Pengaruh lama thawing terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi Bali (*Bos sondaicus*) di Dinas Pertanian Provinsi Maluku Utara. *J. Anim. Husbandry Sci.* 3: 11-17.
- Aprilina, N., Suharyati, S., Santosa, E., 2014. Pengaruh suhu dan lama thawing di dataran rendah terhadap kualitas semen beku sapi Simmental. *J. Ilmiah Peternakan Terpadu.* 2: 96-102.
- Badan Standardisasi Nasional. 2021. Semen Beku – Bagian 1 : Sapi. Badan Standardisasi Nasional. SNI 4869-1:2021. BSN Jakarta.
- Chaudhary, S., C., Aeksiri, N., Wanangkarn, A., Liao, Y., J., Inyawilert, W., 2021. Effect of melatonin on cryopreserved semen parameters and apoptosis of thai swamp buffalo bull (*Bubalus bubalis*) in different thawing conditions. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 9: 238-245
- Fitrik, Supartini N., 2012. Pengaruh suhu dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa kambing Peranakan Etawa. *Buana Sains.* 12: 81-866
- Hamangkutama, G., J., Ihsan, M. N., Isnaini, N., 2015. Pengaruh berbagai metode thawing terhadap kualitas semen beku kambing Peranakan Etawa (PE). (*Doctoral dissertation*, Universitas Brawijaya).
- Heriyanta, E., Ihsan, M., N., Isnaini, N., 2013. Pengaruh umur kambing Peranakan Etawah (PE) terhadap kualitas semen segar. *J. Ternak Tropika.* 14: 1–5.
- Hoesni, F., 2013. Pengaruh penggunaan metode thawing yang berbeda terhadap kualitas spermatozoa semen sapi perah berpengeris tris sitat kuning telur. *J. Ilmiah Universitas Batanghari Jambi.* 13: 118-126.
- Irvanto, R., Hardijanto, Paramita, W., Susilowati, S., Damayanti T., L., Safitri, E., 2018. Kualitas motilitas dan viabilitas spermatozoa dari semen afkir sapi Limousin pada pengencer susu skim kuning telur sitrat dengan penambahan berbagai kadar glukosa. *Ovozoa.* 7: 96-101

- Kusumawati, E., D., Rahadi, S., Santoso, S., Yulianti D., L., 2019. Pengaruh lama thawing yang berbeda pada suhu 25°C terhadap kualitas semen beku sapi Ongole. *J. Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*. 6: 119-123.
- Lestari, W., A., D., Susilowati, S., Warsito, S., H., 2014. Pengaruh berbagai waktu thawing semen beku domba Ekor Gemuk (DEG) terhadap persentase viabilitas, motilitas dan membran plasma utuh spermatozoa. *Ovozoa*. 3: 247-251.
- Mahendra, H., C., Samsudewa D., Ondho Y., S., 2018. Evaluation of semen quality of buffalo frozen semen produced by Artificial Insemination Center. *JITAA*. 43: 26-34.
- Muhammad, D., Susilawati T., Wahjuningsih, S., 2016. Pengaruh penggunaan CEP-2 dengan suplementasi kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi FH (*Frisian Holstein*) kualitas rendah selama penyimpanan suhu 4-5°C. *J. Ternak Tropika*. 17: 66-76.
- Muhammad, D., Isnaini, N., Yekti, A., P., A., Kuswati, Lukman, H., Y., Lutfi, M., Susilawati, T., 2018. Kualitas spermatozoa sapi Peranakan Ongole dalam pengencer air kelapa selama penyimpanan pada suhu 4-5°C. *J. Sains Peternakan*. 6: 1-9.
- Nyuwita, A., Susilawati, T., Isnaini, N., 2015. Kualitas semen segar dan produksi semen beku sapi Simmental pada umur yang berbeda. *J. Tropical Anim. Production*. 16: 61-68.
- Pawshe, M., Becha, B., B., Unnikrishnan, M., P., Harshan, H., M., Ghosh, K., N., A., 2017. Bovine semen thawed at 28° C or 37° C can be used for ai till 90 min post-thaw. *Indian J. Anim. Reprod*. 38: 9-11
- Pratama, J., W., A., Sari, D., A., K., Sigit, M., 2018. Pengaruh beberapa metode thawing terhadap kualitas semen beku sapi Simental. *J. Ilmiah Fillia Cendekia*. 3: 39-45.
- Purnomo, M., H., Supriyono, Nasata, Y., 2019. Pengaruh suhu dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa pada straw sapi Bali. *Stock Peternakan*. 2: 1-16.
- Rodiah, Yuliani E., Dradjat, A., S., Arman, C., 2015. Efektivitas kinerja pentoksifilin terhadap kualitas dan integritas membran plasma utuh pada sperma sapi bali hasil pemisahan dengan menggunakan albumin. *J. Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia*. 1: 70-76.
- Salim, M., A., Susilawati, T., Wahyuningsih, S., 2012. Pengaruh metode thawing terhadap kualitas semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *J. Agripet*. 12: 14-19
- Susilawati, T., 2011. Spermatologi. *Universitas Brawijaya Press. Malang*.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman inseminasi buatan pada ternak. *Universitas Brawijaya Press. Malang*.
- Utomo, S., Boquifai, E., 2010. Pengaruh temperatur dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa sapi dalam penyimpanan straw beku. *Sains Peternakan*. 8: 22-25.
- Wahyutea, H. R., Sutopo, Ondho, Y., S., 2015. Pengaruh jarak dan waktu tempuh terhadap post thawing motility, abnormalitas dan spermatozoa hidup semen beku. *Anim. Agric. J*. 4: 149-154
- Wulandari, I., A., Prihatno, S., A., 2014. Pengaruh berbagai temperatur thawing semen beku terhadap keberhasilan inseminasi buatan pada sapi potong. *J. Sain Veteriner*. 32: 40-45.